

Aus dem II. Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. med. Willy S c h w a r z

ELEKTRONENMIKROSKOPISCH HELLE UND DUNKLE
ZELLEN IM EXOKRINEN PANKREASGEWEBE DER RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Armgard Gräfin von Keyserlingk

geb. von Kopp

aus Berlin

1969

Aus dem II. Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Willy S c h w a r z .

Elektronenmikroskopisch helle und dunkle Zellen im
exokrinen Pankreasgewebe der Ratte.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Armgard G r ä f i n v o n K e y s e r l i n g k
geb. von Kopp
aus Berlin.

Dekan: Professor Dr.med. Hans Heinz N a u m a n n

Referent: Professor Dr.med. Willy S c h w a r z

Korreferent: Professor Dr. med. Wilhelm M a ß h o f f



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am : 8. 4. 1969

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung.....	1
Material und Methode.....	13
Befunde.....	14
Diskussion.....	23
Zusammenfassung.....	26
Abbildungen.....	27
Literaturverzeichnis.....	31
Lebenslauf.....	37

Elektronenmikroskopisch helle und dunkle Zellen
im exokrinen Pankreasgewebe der Ratte.

Einleitung.

In der elektronenmikroskopischen Literatur wurden helle und dunkle Zellen in einer Reihe von Organen beschrieben. Gemeint sind damit Zellen gleichen Zelltyps mit einem Kontrastunterschied. Auch andere morphologische Merkmale konnten mit dieser Erscheinung in Verbindung gebracht werden. Das Auftreten der Zellen wurde sowohl im normalen Gewebe wie unter den verschiedenen experimentellen Bedingungen beobachtet.

Neben den elektronenmikroskopisch auftretenden hellen und dunklen Zellen wurden in der Lichtmikroskopie auch Zellen beschrieben, die auf Grund der Gewebsaffinität für bestimmte Färbungen als hell und dunkel bezeichnet wurden. (Feyrter 1951, Cammermeyer 1962, Fuchs 1959, Wüstenfeld 1955).

Über die Entstehung heller und dunkler Zellen sind in der elektronenmikroskopischen Literatur z.T. widersprechende Ansichten geäußert worden: So soll es sich um Zellen verschiedenen Aktivitätsgrades, - unterschiedlicher Funktionsphasen, degenerierende Zellen oder Fixierungsartefacte handeln.

Da bisher keine umfassend angelegten Untersuchungen, sondern nur auf ein Organ begrenzte Abhandlungen vorliegen, erscheint die Zusammenstellung der Literatur, nach Organen geordnet, sinnvoll. Die Literaturzusammenstellung soll im folgenden tabellarisch wiedergegeben werden, um sie kürzer und übersichtlicher darstellen zu können, daran anschließend werden gemeinsame Gesichtspunkte hervorgehoben. In den Tabellen wird das jeweilige Experiment, die Morphologie der Zellen und die erörterte Entstehungsursache berücksichtigt.

Lebergewebe.

Versuchstiere sind Ratten.

Autor	Experiment	Beschreibung	Deutungsversuch
Thoenes 1962	Chron.Thio- acetamidver- giftung	d.Z.kleiner als h.Z. In d.Z. Grundcytoplasma verschmälert und Strukturen dichter beieinander.	i.Z.:weniger Wasser- gehalt als h.Z.
Herman et.al 1962	Ethionin i.p. und eiweiß- arme Diät	d.Z. besitzen mehr Zellorga- nellen als h.Z.	
Lafon- taine, Allard 1964	Kontrollratten Eiweißarme Diät und 2MeDAB	====dunkle Leber- zellen. =====mehr dunkle Leberzellen als bei Kontroll- ratten.	
Herdson et.al 1964	Eiweißmangel- diät	d.Z.: eng gelager- te Zellorganellen und dichtes e.R. h.Z.:verstreute Organellen, Schwellung und Vesiculation des e.R.	Intravitaler Struk- turunterschied zwischen h.Z. und d.Z.,der sich bei OsO fix.offenbart. Unterschiedliche Wasserverteilung wird abgelehnt.
Hübner, Bernard 1961	5 Min.Dros- selung der Leberdurch- blutung	Es erscheinen ein- zelne dichtere Leberzellen. (h.Z.und d.Z.)	
Steiner et.al 1962	7-tägige Un- terbindung des Gallen- ganges und retrograde intrabiliäre Inj.von HgS.	d.Z.:dicht beiein- ander liegende Mitochondrien. h.Z.:verstreute Mitochondrien. HgS erscheint vorwiegend in h.Z.	h.Z.:größerer Wassergehalt durch gestörte Zellper- meabilität.Frühes Stadium der Dege- neration.

Autor	Experiment	Beschreibung	Deutungsversuch
Bartok, Viragh 1965	Subtotale==== Hepatektomie	Nach 48 St.erschei- nen h.Z.und d.Z. Die h.Z. engen die Sinusoide ein, Ödem der Mikro- villi. Im Regene- rationsprozeß Vermehrung von Glykogen,dabei Schwund der h.Z. und d.Z.	h.Z.:Zellödem.Vermut- lich entstehen h-Z. nach Mitosen, da ihre Zahl am 2. und 3. postoperativen Tag am größten ist. d.h. nach der größten mito- tischen Aktivität.
Westman 1966	Lebergewebe von 15 Tage alten Küken- embryonen, die sich 3 Tage in Kul- tur befanden.	Dichteunter- schied einiger Leberzellen.	d.Z.: keine Anzeichen einer schlechten Fix.,denn keine Va- cuolisierung der Mi- tochondrien, Dila- tation des e.R.
David et.al 1962	Eiweißmangel- diät und chron. CCl ₄ Vergiftung.	Einige Leber- sternzellen diffus osmiophil und geschrumpft.	Degenerative Er- scheinung der Leber- sternzellen.
Steiner et.al 1962	Experiment wie oben. (Steiner et. al 1962)	Dichteunterschied der Lebergefäß- endothelzellen.	Unterschiedliche Hy- dratation der Zellen durch Permeabilitäts- veränderungen, die zu Zellschwellung und -schrumpfung führen.
Steiner et.al 1962	14-tägige Unterbindung des Haupt- gallenganges.	Viele dunkle in- trahepatische Gallengangs- epithelzellen.	Entweder sind d.Z. sezernierende Zellen, da sie erschöpften Darmzellen ähneln oder ruhende Zellen mit Wasserverlust Schwankungen des os- motischen Gleichge- wichtes oder Ruptur der ödematösen Mikro- villi.

In den Tabellen werden folgende Abkürzungen verwandt:

d.Z.: dunkle Zellen
h.Z.: helle Zellen
e.R.: endoplasmatisches Retikulum

Arbeiten, in denen helle und dunkle Zellen nur abgebildet,
aber nicht beschrieben worden sind, werden nicht berück-
sichtigt.

Nebenniere.

In der Nebennierenrinde werden häufig unter normalen Bedingungen in der Zona reticularis und fasciculata helle und dunkle Zellen gefunden.

Autor	Experiment	Beschreibung	Deutungsversuch
Lever 1955	Ratten, Mäuse, Kaninchen, Hamster	d.Z.: dicht gepackte Mitochondrien. h.Z.: einige Mitochondrien sind vacuolisiert. Intrazelluläre Hohlräume, die sich in den subendothelialen Raum öffnen.	h.Z. stehen mit der Steroidsekretion in Verbindung.
Lever 1956	Kontrollratten Hypophysektomie	===h.Z. und d.Z. =====wenige d.Z. Dann Gabe von KCl zur Stimulierung der NN	d.Z.: junge, formative Zellen.
Cotte N. Cotte G. 1961	Ratten, Meer- schweinchen, Kaninchen.	h.Z.: aufgeblähte Mitochondrien, Liposomen von Vakuolen umgeben. Myeline Strukturen im Cytoplasma. Zellreste der h.Z. werden in Kapillaren gefunden.	h.Z.: degenerierte Zellen werden durch holocrine Sekretion in die Kapillaren abgegeben. h.Z. nicht durch Trauma entstanden.
Yamori 1961	Ratten	d.Z. so dicht, daß es schwer ist, die Intrazellulärstruktur zu sehen.	
Schwarz et.al 1962	Ratten Hypophysektomie	Vereinzelte Fasciculatazellen haben zusammengelagerte Mitochondrien, dadurch entsteht der Eindruck einer d.Z. =====Die sehr d.Z. sind nicht mehr vorhanden.	

Autor	Experiment	Beschreibung	Deutungsversuch
Nishikawa 1963	Ratten Kon- trolle 7-tägige ACTH	====h.Z. und d.Z. ====h.Z. nehmen in der Zona fasciculata zu.	d.Z. seien aktive Zellen auf Grund der Mitochondrien- struktur.
Kondics et.al 1966	Vögel	In den d.Z.haben die Mitochondrien zahl- reiche Tubuli.In h.Z.:Mitochondrien weniger Tubuli.	d.Z. stellen einen funktionellen Zustand dar.
Propst et.al 1966	Ratten	h.Z.:Mitochondrien zeigen innere Spalt- bildung,die für Zell- quellung spricht. d.Z.sind kleiner und haben dicht ge- packte Organellen. Liposomen kontrast- reicher als in h.Z.	
Giacco- melli et.al 1965	Ratten Zona glomeru- losa durch salzlose Nah- rung stimu- liert.	In der Zona glomeru- d.Z.:inaktive losa h.Z.mit zahlrei-oder Reserve- chen cytoplasmati- zellen werden in schen Tropfen. h.Z. umgewandelt, d.Z.sind schmaler, die größere Fähig- haben weniger cyto- keit zur Steroid- plasmatische Tropfen.synthese haben. ===Nach 2 Tagen nimmt Zahl der d.Z.ab,ver- schwinden nach 7 Tagen.	

Hoden.

Es liegen zahlreiche Abhandlungen über helle und dunkle Leydig'sche Hodenzwischenzellen vor. Bei Beschreibung der dunklen Zellen wird fast stets eine dichte granuläre Grundsubstanz und ein aus einer Vielzahl von Membranen zusammengedrücktes endoplasmatisches Retikulum hervorgehoben. Die hellen Zellen besitzen dagegen ein aus Vesiceln und Vacuolen bestehendes endoplasmatisches Retikulum.

Autor	Experiment	Beschreibung	Deutungsversuch
Christensen, Fawcett 1961	Opposum	d.Z.höheren Kon- trast als h.Z.	d.Z.wahrscheinlich aktive Z.Größere Os- miophilie durch ver- mehrte Steroidkon- zentration.
Crabo 1961	Kaninchen	d.Z.:unregelmässi- ge Zellgrenzen, Kerne,Mitochon- drien,e.R.gefäl- tet.	
Leeson 1963	Ratten	Dichteunterschied zwischen h.Z.und d.Z.	h.Z.und d.Z.kein Ar- tefact,verschiedene Aktivitätsphasen.
Christen- sen 1965	Meer- schweinchen Glutaralde- hydfix.mit oder ohne Perfusion.	Kein Dichteunter- schied bei Gluta- raldehydfix.da- gegen mit OsO ₄ fix., Dichteunterschied als besonders ohne Per- fusion deutlicher Dichteunterschied.	Wenn Glutaraldehyd als bessere Fix. gilt, kann man den Dichteunterschied als Fixierungsartefact ansehen.
Murakami 1966	Ratten	d.Z.:kleiner als h.Z.Kern unregel- mäßige Kontur,häu- figer Kernkörper- chen,Mitochondrien klein mit gut aus- gebildeten Tubuli, die der h.Z.zeigen erhebliche An- schwellung und spär- liche Binnenstruktur. Golgizone in h.Z. stärker entfaltet. Glycogengranula nur in d.Z.	
De Ketser 1967	Hodengewebe beim Menschen	d.Z.:unregelmässi- ge Mitochondrien, z.T.myelinartige Figuren enthaltend. Kerne:unregelmässi- ge Kontur und Chro- matinklumpen.Gly- kogenanhäufungen nur in d.Z.	d.Z.aktiver.Möglicher- weise mit Steroid- biosynthese ver- wickelt.Warum sollte Fix.artefact nur einzelne und nicht alle Zellen be- treffen?

Autor	Experiment	Beschreibung	Deutungsversuch
<u>Ductuli efferentes:</u>			
Schmidt 1964	Hodengewebe beim Menschen	h.Z.:strukturarmes Cytoplasma,runder heller Kern. d.Z.:Cytoplasma von Ribosomen durch- setzt.Kontrastrei- cher Kern.Vorbuck- lungen an Zellober- fläche mit struk- turlosem Inhalt, gleiche Gebilde im Kanälchenlumen.Ab- schnürungsvorgänge apikaler Cytoplas- mateile in das Kanälchenlumen bei d.Z.	

Niere.

Schwarz, Wolff 1966	Ratten, Hypophys- ektomie	Hauptstück der Niere:h.Z. d.Z. und verschiedene Übergangsformen. Dichteunterschiede.	Wasserverschiebungen.
---------------------------	---------------------------------	--	-----------------------

Gallenblasenschleimhaut.

Wolf- Heidegger et.al 1965	Katzen, Mensch	d.Z.im Epithel der Katze,nicht beim Menschen.d.Z.:erhö- hte Dichte durch freie Ribosomen und agranuläre Vesicel.	
Johnson et.al 1962	Hund	d.Z.:Cytoplasma so elektronendicht, daß es schwer ist, Einzelheiten zu erkennen.	Stoffwechsel der d.Z. herabgesetzt,d.Z. nicht durch seitliche Kompression ent- standen.

Prostata.

<u>Autor</u>	<u>Experiment</u>	<u>Beschreibung</u>	<u>Deutungsversuch</u>
Brandes 1966	Ratten	d.Z.haben ein ausgeprägteres und weiter vorteilteres e.R. als h.Z.	Verschiedene sekretorische Phasen der Zelle, denn e.R. nicht nur an Synthese, sondern auch an Sekretion von Stoffen beteiligt.

Corpus luteum.

Lever 1956	Ratten, schwängere	Helle Luteinzellen: im Cytoplasma viele dünnwandige Säcke. Mitochondrien vergrößert, vacuolisiert, von unregelmäßiger innerer Struktur. d.Z.: kompakte Mitochondrien.	d.Z. und h.Z.: Phasen eines sekretorischen Cyclus.
---------------	-----------------------	---	--

Vasques- Nin, Sotelo 1967	Ratten, Follikelzellen vor Follikelsprung.	h.Z.: rund. d.Z.: langgestreckt, mit unregelmäßigen Zellkonturen. d.Z. mit Ribosomen beladen, worauf Dichte beruht.	h.Z. mit weniger Ribosomen stärker degeneriert.
------------------------------------	--	---	---

van Lennep, Madden 1965	Mensch	Einige sehr dichte Granulosaluteinzellen haben sternförmige Gestalt.	
-------------------------------	--------	--	--

Zentralnervensystem.

Autor	Experiment	Beschreibung	Deutungsversuch
Gansler, Loew 1962	Mensch, Gehirn Purkinje- zellen	h.Z.mit locker ver- teilten Ribosomen. Die vom e.R.um- schlossenen Räume bilden schmale Spalten.d.Z.: eng gepackte Ribosomen, e.R.zysternenartig erweitert.	Dichtezunahme durch Dehydratation.Diese Volumenabnahme führt zu Volumenzu- nahme der vom e.R. umschlossenen Räume.
	Pat.vor Op.===== mit Harn- stoffinfus. entwässert.	Der dichte Zelltyp scheint vorzuherrschen.	
Kabayaski 1965	Ratten,Hypo- physenmittel- lappen.	d.Z.:schmale,unre- gelmäßige Außen- fläche.Cyto- und Nucleoplasma ver- dichtet.Zell- und Kernkonturen gefal- tet und erscheinen geschrumpft.Wenige Mitochondrien, schlecht entwickel- tes e.R. h.Z.: helle Vesicel,die nicht in d.Z. vor- handen sind.	d.Z.: Zustand der Degeneration.
	Adrenalek===== tomie.	Zahl der d.Z. wächst.	
Hess 1955	Meerschwein- chen,Spinal- ganglien- zellen	d.Z.:Nissl Sub- stanz gleichmäßig in der Zelle ver- teilt,bei h.Z. da- gegen verstreute Anhäufungen der Nissl Substanz.	Verschiedene Zell- typen, nicht durch Fixierung bedingt.
Nemet- schek- Gansler 1963	Ratten,Perfu- sionsfix.Kern- gebiete des N. supraopticus und paraven- tricularis. Immersionsfix.	d.Z.:Karyoplasma ist heller als Cytoplasma.h.Z.: Zellkerne gleiche Dichte wie Grund- cytoplasma. ====d.Z.mit peri- zellulären Schrumpfräumen.	d.Z.: Funktions- steigerung,h.Z.: Erschöpfungsform. Schrumpfräume durch Präparation.

Autor	Experiment	Beschreibung	Deutungsversuch
Ziegler 1963	Ratten, 2% Kochsalzlös., dadurch Stimulierung der Neurohypophyse, die mit Hypophysenmittellappen in funktioneller Verbindung steht.	Hypophysenmittellappen: mehr d.Z. als bei Kontrollratten, d.Z.: gut ausgebildeter Golgiapparat, zahlreiche freie Ribosomen, h.Z.: gleichmäßig verteilte Bläschen, als e.R. gedeutet. Wenige und kleine Mitochondrien, nicht gut ausgebildetes Golgiefeld.	d.Z.: aktivste Zellen, die bei Aktivitätssteigerung im Hypophysenmittellappen gehäuft vorkommen.
Nemet-schek-Gansler 1965	Ratten, Glutaraldehydperfus. Kerngebiete des N. supraopticus u. paraventricularis. Chronische NaCl Belastung=====	d.Z.: mehr granuläres Reticulum und freie Ribosomen als h.Z. Diese zeigen oft Vacuolisierung der Golgilamellen. Mehr d.Z.	d.Z.: Aktivitätssteigerung. h.Z.: Zeichen eines Erschöpfungsstadiums.

Darm.

Bergner 1962	2-3 Tage alte gesäugte Goldhamster. Saumzellen des Darms.	d.Z.: unregelmäßig geformt. Kerne klein und weisen Einbuchtungen auf. Mitochondrien und e.R. sind gut ausgebildet und liegen eng zusammen. Viele Palade Granula im Grundcytoplasma verstreut.	d.Z.: keine zu Grunde gehende Zelle. (Zeichen der Milchresorption vorhanden.) d.Z.: an Flüssigkeit ärmer. Möglicherweise Stammzelle der h.Z. (Lage im Grunde der Krypten, wo meisten Mitosen vorkommen und viele Palade Granula.)
-----------------	---	---	---

Glandula submaxillaris.

Tamarin Sreebney 1965	Ratten, Zellen der Ausführungsgänge	d.Z.: mehr Vesicel als h.Z. und Cytoplasmastrukturen liegen enger zusammen.	d.Z.: größere Fähigkeit als h.Z. Flüssigkeit zu transportieren.
-----------------------------	-------------------------------------	---	---

In der Beschreibung der hellen und dunklen Zellen, stimmen alle Arbeiten dahingehend überein, daß das Grundcytoplasma in den dunklen Zellen dichter oder kompakter als in den hellen Zellen sei. Außerdem wird stets hervorgehoben, daß es zwischen hellen und dunklen Zellen alle Übergangsformen gibt. Ein weiteres Kennzeichen ist ihre regellose Anordnung im Gewebe.

Vergleicht man die beigegeführten Abbildungen in den Arbeiten, so wird deutlich, daß gleiche morphologische Merkmale beschrieben werden. Die Erklärungsversuche sind aber uneinheitlich und oft nur Mutmaßungen.

Es wurde in den aufgeführten Arbeiten sowohl mit Osmiumsäure in verschiedener Konzentration, (Steiner et.al 1962, Crabo 1961, Leeson 1963) als auch mit Glutaraldehyd, (Murakami 1966, Kondics et.al 1966, van Lennep, Madden 1966) fixiert. Bei Permanganatfixierung nach Luft (1956), bei welcher vorwiegend die Membransysteme der Zelle dargestellt werden, das Grundcytoplasma dagegen fast völlig extrahiert wird, werden helle und dunkle Zellen nicht gesehen (Herdson et.al 1964). Die Annahme, daß nach Perfusionsfixierung keine hellen und dunklen Zellen auftreten (Christensen 1965), hat sich nicht bestätigen lassen (Giacomelli et.al 1965, Nemetschek-Gansler 1963 und 1965).

Es wurden Methacrylate (Cotte G., Cotte N. 1961, Lever 1956, Bergner 1962) Epon, (Leeson 1963, Herdson et.al 1964) Vestopal, (Kondics et.al 1966, Schwarz, Wolff 1966) und Araldit (Wolf-Heidegger et.al 1965, Giacomelli 1965) zur Einbettung verwandt.

Das wiederholte Auftreten heller und dunkler Zellen bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen im hiesigen Institut ließ es wünschenswert erscheinen, die Literatur zusammenzustellen und experimentelle Untersuchungen vorzunehmen. Es war insbesondere das Ziel dieser Arbeit, die Unterscheidungsmerkmale der hellen und dunklen Zellen auch quantitativ zu erfassen.

Da behauptet wurde (Wolf-Heidegger et.al 1965), daß in der Gallenblasenschleimhaut des Menschen im Gegensatz zur Katze keine hellen und dunklen Zellen auftreten, wurde dieser Frage nachgegangen. Die Behauptung konnte aber nicht bestätigt werden, es fanden sich in der menschlichen Gallenblasenschleimhaut ebenfalls beide Zelltypen. Da die Blutzufuhr vor der Gallenblasenextirpation unterbunden wird, wäre es möglich gewesen, daß durch die mangelnde Blutversorgung (Hübner 1961) oder durch mechanische Schädigungen während der Operation, die hellen und dunklen Zellen entstanden wären (Cotte 1961).

Um diese Fragen zu klären, wurden Versuche mit Ratten angestellt, und die Blutzufuhr zu dem zu untersuchenden Organ verschieden lange gesperrt, außerdem Schädigungen mechanischer Art möglichst ferngehalten.

Zunächst sollte die Schleimhaut der Gallenwege als Untersuchungsmaterial dienen. Es erwies sich aber, daß das den Gallenwegen anhaftende exokrine Pankreasgewebe, dessen Zellen eine strenge Ordnung durch ihr hoch entwickeltes endoplasmatisches Retikulum besitzen, für quantitative Auswertungen besser geeignet ist. Dieses Material wurde dann zur Grundlage der Arbeit gemacht.

Material und Methode.

Albinoratten dienten als Versuchstiere. Die Ratten wurden mit Äther narkotisiert und die Bauchhöhle eröffnet.

In einer 1. Versuchsserie wurde mit einer Schere Gallengang und anhaftendes Bauchfell entnommen und sofort in die eisgekühlte Fixierflüssigkeit gegeben.

Bei der 2. Versuchsserie wurden, nach Darstellung der Gallenwege, 2 Catgutfäden, im Abstand von etwa 1 cm, um den Gallengang und das anhaftende Gewebe geführt und gezogen. Nach 3 Minuten Einlegung des unterbundenen Gewebes zusammen mit den Catgutfäden in die Fixierlösung.

In einer 3. Serie wurde dann das Gewebe nach 6 Minuten Unterbindung entnommen und fixiert.

Als Fixierlösung dienten: 1.) 1% OsO_4 Lösung in Saccharose-Michaelispuffer.

Nach 1 Stunde Fixierung wurden die mechanisch geschädigten Randgebiete des exidierten Gewebes verworfen, in Versuchsserie 2 und 3 zusammen mit den Catgutfäden.

Das in Glutaraldehyd fixierte Material wurde in 2% OsO_4 Lösung nachfixiert.

Nach Entwässerung in Aceton Einbettung in Vestopalblöcke. Herstellung der Dünnschnitte mit Hilfe eines LKB Ultratoms. Die Nachkontrastierung der Schnitte erfolgte in 1% Uranylacetatlösung für 15 Minuten, in Reynoldslösung (Bleinitrat und Natriumcitrat) für 8 Minuten.

Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen mit einem Siemens Elmiskop I bei einer Strahlspannung von 80 KV. Zur quantitativen Auswertung wurden die elektronenmikroskopischen Negativplatten mit Hilfe eines Mikrofilm Lese- und Vergrößerungsgerätes, Systematik 3K, (Firma Tausch und Simon KG.) auf eine Mattscheibe projiziert. Vergrößerungsmaßstab 1 : 19. Auf dieser Mattscheibe konnten dann die Messungen durchgeführt werden.

Befunde.

Das exokrine Pankreasgewebe ist bereits elektronenmikroskopisch untersucht worden (Sjöstrand, Hanzon 1954, Palade, Siekewitz 1956, Munger 1958, Ekholm, Edlund 1959, Ekholm et al. 1952). Auf die Feinstruktur der normalen exokrinen Pankreaszellen braucht daher nicht eingegangen zu werden.

Der Vergleich von Dünnschnitten aus den 3 Versuchsserien bei beiden Fixierungen ergab, daß helle und dunkle Zellen in allen 3 Serien vorkommen und zwar in der Schleimhaut der Gallenwege und im Pankreasgewebe. Schon bei geringer Vergrößerung fallen diese Kontrastunterschiede zwischen den Acinuszellen des exokrinen Pankreasgewebes auf. Von der unterschiedlichen Elektronendichte ist stets die ganze Zelle erfaßt, nicht nur einzelne Zellregionen. Neben ausgesprochenen hellen und dunklen Zellen, die die morphologischen Merkmale dieser Zelltypen am ausgeprägtesten besitzen, gibt es alle Übergangsformen. So finden sich auch Zellen, bei denen die Charakteristika der hellen und dunklen Zellen nur im geringen Maße vorhanden sind.

In allen Versuchen überwiegen in Übereinstimmung mit der Literatur die hellen Zellen. Helle und dunkle Zellen liegen regellos im Gewebe.

Betrachtet man nebeneinander liegende helle und dunkle Zellen, stellt man fest, daß vorwiegend das Grundcytoplasma zwischen den Membranen des endoplasmatischen Retikulums für den Kontrastunterschied verantwortlich ist. Dagegen hat der Inhalt der Zisternen in allen Zellen den Kontrast des Einbettungsmittels.

Das Nucleoplasma der dunklen Zelle ist dichter als das des hellen Zelltyps. Nucleolen sind bei beiden Zellformen zu erkennen und zeigen keinen auffälligen Unterschied in Form und Dichte.

Die Matrix der Mitochondrien weist geringe Dichteunterschiede auf. Mitochondrien und Zymogengranula liegen in den dunklen Zellen enger nebeneinander als in den hellen Zellen.

Vergleicht man beide Zelltypen, so erscheint die dunkle Zelle kleiner als die helle. Die Zellgrenze der dunklen Zelle ist unregelmäßig geformt und weist viele Einbuchtungen auf, während sie bei den hellen Zellen glatt ist. Auch die Kernumrisse der dunklen Zellen sind faltig, dagegen bei den hellen Zellen rund (Abb. 5).

Die Ribosomen sind in den dunklen Zellen stärker zusammengedrängt und auch für die vermehrte Dichte des Grundcytoplasmas verantwortlich (Abb. 1).

Das Membransystem des endoplasmatischen Retikulums zeigt in der Pankreaszelle eine charakteristische intrazelluläre Ordnung. Die Zisternen liegen in regelmäßigen Abständen zueinander und parallel zur äußeren Zellmembran. In den dunklen Zellen liegen die Zisternen des endoplasmatischen Retikulums enger nebeneinander als in den hellen Zellen. (Abb. 1-4) Es galt nun zu untersuchen, ob dieser sichtbare Unterschied auch einer statistischen Prüfung standhalten würde.

Wenn Abstände zwischen den Zisternen des endoplasmatischen Retikulums von hellen und dunklen Zellen miteinander verglichen werden sollen, waren dazu 2 Voraussetzungen zu erfüllen.

- 1.) Die helle und die dunkle Zelle mußten auf der gleichen elektronenmikroskopischen Aufnahme abgebildet sein, um Vergrößerungsfehler auszuschalten.
- 2.) Die Schnitte mußten senkrecht zur Anordnung der Zisternen gelegt sein, um die kürzeste Entfernung messen zu können.

Da die Zisternen nicht nur innerhalb einer Zelle parallel, sondern auch parallel zu den Zisternen der zu vergleichenden Nachbarzelle verlaufen (Abb. 1), wirkt sich bei nicht ganz

senkrechter Schnittführung der Fehler in der Abstandsmessung in beiden Zellen in gleicher Weise aus.

In den diesen Voraussetzungen gerecht werdenden elektronenmikroskopischen Aufnahmen mußten nun die Abstandsmessungen in zufälliger Auswahl durchgeführt werden. Dazu war ein Punktgitter nach Weibel (1964) geeignet. Dieses Gitter wurde auf die Mattscheibe des Vergrößerungsgerätes gelegt und darüber die elektronenmikroskopische Aufnahme projiziert. Dort, wo ein Gitterpunkt auf eine Membran fiel, wurde der Abstand bis zur nächsten Zisterne bestimmt. Um die kürzeste Entfernung zu messen, war oft eine Drehung des Gitters um den angenommenen Membranpunkt notwendig. Lag dem zufällig ausgewählten Punkt auf der Membran eine Lücke in der benachbarten Zisterne gegenüber, so wurde nicht gewertet.

Aus jeder Versuchsserie wurden 2 Paare heller und dunkler Zellen ausgewertet. Es zeigte sich, daß weitere Messungen sich erübrigten. Das Ergebnis der Zählungen wurde in folgenden Kurven dargestellt.

In das Koordinatensystem wurde auf der Abzisse der Abstand zwischen den Zisternen eingetragen, in der Ordinate die Häufigkeit der gemessenen Werte. In jeder Zelle wurden 100 Abstände gemessen. Der Zisternenabstand ist ein Maß für den Grundcytoplasmaraum.

Verteilungskurven der Zisternenabstände in hellen und dunklen Zellen.

Abzisse: Abstände zwischen den Zisternen.

Ordinate: Häufigkeit dieser Werte.

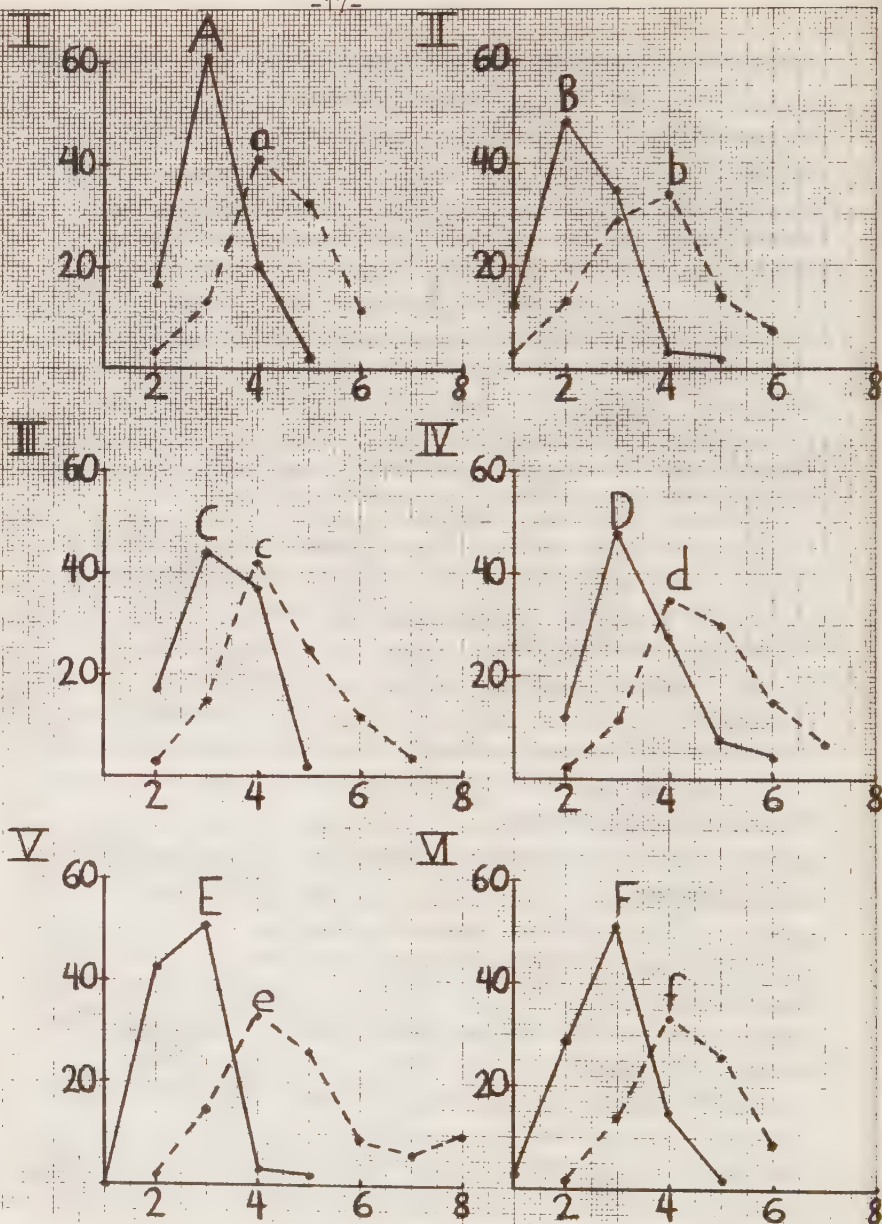
Gewebe wurde sofort fixiert (Kurven I und II).

Gewebe wurde vor der Fixierung 3 Minuten unterbunden (Kurven III und IV).

Gewebe wurde vor der Fixierung 6 Minuten unterbunden (Kurven V und VI).

Kurven mit ausgezogener Linie=dunkle Zellen (A,B,C,D,E,F.)

Kurven mit gestrichelter Linie=helle Zellen (a,b,c,d,e,f.)



verteilungskurven der Zisternenabstände in hellen und dunklen Zellen.

Den Kurvenpaaren liegt jeweils eine helle und eine dunkle Zelle der gleichen elektronenmikroskopischen Aufnahme zu Grunde. Die mit ausgezogener Linie wiedergegebene Kurve entspricht den dunklen Zellen, mit unterbrochener Linie den hellen Zellen. Es zeigte sich, daß die Kurven der hellen Zellen in allen Fällen um etwa den gleichen Betrag nach rechts verschoben sind. Darin kommt eine Verbreiterung des Zisternenabstandes in den hellen Zellen im Vergleich zu den dunklen Zellen zum Ausdruck.

Der mittlere Zisternenabstand in den verschiedenen Zellen ist in der Tabelle 1 wiedergegeben.

T a b e l l e 1

Der mittlere Zisternenabstand in hellen und dunklen Zellen.

Dunkle Zellen		Helle Zellen	
A.	3,07	a.	4,35
B.	2,35	b.	3,64
C.	3.24	c.	4,39
D.	3,44	d.	4,66
E.	2,62	e.	4,84
F.	2,84	f.	4,38

Zur statistischen Sicherung des Befundes wurde eine Varianzanalyse nach den statistischen Rechenblättern von Heite vorgenommen.

Mit Hilfe des Weibel'schen Punktgitters erfolgte eine zufällige Auswahl von Meßwerten (Zisternenabständen) sowohl aus hellen wie dunklen Zellen. Der Mittelwert jeder dieser Meßwertgruppen wurde zunächst bestimmt.

Dann sollte geprüft werden, ob entweder die Mittelwerte nur zufällig verschieden sind, wie man es auch findet, wenn man wahllos Stichproben aus der gleichen Grundgesamtheit herausgreift oder ob die Differenz zwischen den Mittelwerten so groß ist, daß die Zufallsstichproben wahrscheinlich nicht aus derselben Grundgesamtheit stammen. Es wurde also formal folgende Nullhypothese aufgestellt:

Es handelt sich um Zufallsstichproben aus ein und derselben normal|verteilten Grundgesamtheit, und die Mittelwerte weichen nur zufällig voneinander ab. Durch den Vergleich der Varianz der Meßwerte innerhalb der Gruppen und zwischen den Gruppen kann man diese Hypothese prüfen. (F-Test).

Zur Durchführung der einzelnen Rechenoperationen sei auf die statistischen Lehrbücher und Prof. Heites Rechenblatt Nr. 4 verwiesen. In unserem Fall ergab sich, daß diese Nullhypothese nicht zutrifft, d.h. die Mittelwerte weichen nicht nur zufällig voneinander ab, sondern die Meßwerte entstammen verschiedenen Grundgesamtheiten. Dies kann mit einer Sicherheit von 99,9% gesagt werden.

Da die Zahl der Messungen in allen Gruppen gleich groß gehalten worden war, konnte man errechnen, wie groß die Differenz zwischen den Mittelwerten sein muß, um mit einiger Sicherheit behaupten zu können, daß sie nicht nur zufällig verschieden sind. D.h. der geringste statistisch gesicherte Unterschied zwischen zwei beliebigen Mittelwerten wurde mit Hilfe des t-Testes nach Varianzanalyse bestimmt.

So errechnete sich als kleinste signifikante Differenz ein Wert von 0,48 Meßeinheiten bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1%.

Dann wurde die Differenz zwischen den mittleren Zisternenabständen aller Zellen berechnet und in die Tabelle 2 eingetragen. Werte über 0,48 Meßeinheiten ergaben einen signifikanten Unterschied (bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1%).

In allen Fällen findet sich ein signifikanter Unterschied der Zisternenabstände zwischen hellen und dunklen Zellen, die auf der gleichen elektronenmikroskopischen Platte abgebildet sind. Denn diese Differenzen der Mittelwerte sind alle größer als 0,48 und in Tabelle 2 durch Kreise markiert. Vergleicht man helle und dunkle Zellen verschiedener elektronenmikroskopischer Aufnahmen, so besteht in der Regel ein Unterschied der Zisternenabstände, jedoch nicht in allen Fällen. (Ausnahme: helle Zelle b gegen dunkle Zellen C und D).

Werden nun helle Zellen untereinander gegenübergestellt, wird, wie zu erwarten, im allgemeinen kein signifikanter Unterschied der Zisternenabstände zwischen ihnen bestehen. Das gleiche gilt, wenn man dunkle Zellen untereinander vergleicht. Ein nicht signifikanter Unterschied ist in der Tabelle 2 durch eine dickere Umrandung stärker hervorgehoben. Es bestehen auch hier Ausnahmen, wie aus der Tabelle zu entnehmen ist. Bei diesen Ausnahmen ist zu berücksichtigen, daß beim Vergleich verschiedener elektronenmikroskopischer Aufnahmen geringe Vergrößerungsfehler und Schwankungen der Schnittrichtung sich bemerkbar machen können.

T a b e l l e 2

dunkle Z.

	A	B	C	D	E	F
a	1,28	2,00	1,11	0,91	1,70	1,51
b	0,57	1,29	0,40	0,20	1,02	0,80
c	1,32	2,04	1,15	0,95	1,77	1,55
helle Z.						
d	1,59	3,31	1,42	1,22	2,04	1,82
e	1,77	2,49	1,60	1,40	2,20	2,00
f	1,31	2,03	1,14	0,94	1,76	1,54
A	-	0,72	0,17	0,37	0,45	0,23
B	0,72	-	0,89	1,09	0,27	0,49
C	0,17	0,89	-	0,20	0,62	0,40
dunkle Z.						
D	0,37	1,09	0,20	-	0,82	0,60
E	0,45	0,27	0,62	0,82	-	0,22
F	0,23	0,49	0,40	0,60	0,22	-

Tabellarische Wiedergabe der Differenzen zwischen den mittleren Zisternenabständen heller und dunkler Zellen.

Als kleinste signifikante Differenz wurde ein Zisternenabstand von 0,48 Meßeinheiten errechnet (bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1%). In der Tabelle sind die Differenzen zwischen den mittleren Zisternenabständen heller und dunkler Zellen, die auf der gleichen elektronenmikroskopischen Platte abgebildet sind, besonders gekennzeichnet (durch Kreise). Diese Werte sind stets größer als die kleinste signifikante Differenz von 0,48 Meßeinheiten.

helle Z.

a	b	c	d	e	f
-	0,71	0,04	0,31	0,49	0,03
0,71	-	0,75	1,02	1,20	0,74
0,04	0,75	-	0,27	0,45	0,01
0,31	1,02	0,27	-	0,18	0,28
0,49	1,20	0,45	0,18	-	0,46
0,03	0,74	0,01	0,28	0,46	-
1,28	0,57	1,32	1,59	1,77	1,31
2,00	1,29	2,04	3,31	2,49	2,03
1,11	0,40	1,15	1,42	1,60	1,14
0,91	0,20	0,95	1,22	1,40	0,94
1,73	1,02	1,77	2,04	2,20	1,76
1,51	0,80	1,55	1,82	2,00	1,54

Durch eine dickere Umrandung hervorgehoben sind die Differenzen zwischen den mittleren Zisternenabständen, die kleiner als 0,48 Meßeinheiten sind, d.h. es besteht kein signifikanter Unterschied. Bei diesen Werten handelt es sich, von Ausnahmen abgesehen, um eine Gegenüberstellung der mittleren Zisternenabstände heller und dunkler Zellen untereinander.

Diskussion.

Unsere Befunde stellen das exokrine Pankreasgewebe in die Reihe von Organen, in denen helle und dunkle Zellen auch normalerweise gefunden werden. Sie traten bei sofortiger Fixierung auf, und die Unterbindung des Gewebes für 3 und 6 Minuten hatte keinen Einfluß auf das Auftreten oder Aussehen der hellen und dunklen Zellen gezeigt. Das Erscheinen heller und dunkler Zellen konnte auch durch die sorgfältige Vermeidung mechanischer Schädigungen nicht verhindert werden.

Wie oben angeführt, treten sie bei allen heute gebräuchlichen Fixierungsmethoden, die das Grundcytoplasma erhalten, auf.

Das Merkmal "hell" und "dunkel" ist zwar das auffälligste, aber nicht das alleinige Kennzeichen dieser Zellen. Es bedeutet zunächst nur, daß in den dunklen Zellen eine stärkere Elektronenstreuung als in den hellen stattfindet, beruhend auf einer höheren Konzentration an Schwermetallen (v.Borries 1954, Ruthmann 1966).

Die Unterscheidung hell und dunkel ist vieldeutig, und es erscheint angebracht, die hier erarbeiteten morphologischen Kennzeichen zunächst zusammenzustellen:

- a) Die Zellen des Gewebes weisen Kontrastunterschiede auf, wobei es zwischen extrem hellen und dunklen Zellen Übergangsformen gibt.
- b) Eine zufällige Anordnung der Zellen im Gewebe ist charakteristisch.
- c) Dunkle Zellen sind kleiner und haben gefältete Zell- und Kerngrenzen; helle Zellen erscheinen größer und abgerundeter.
- d) Die Zellorganellen sind enger zusammengedrückt, wie hier am Beispiel des Zisternenabstandes nachgewiesen wurde. Das bedeutet, daß der Grundcytoplasmaraum verkleinert ist.

Unter Hinzuziehung dieser Kennzeichen gelingt es, einzelne in der Literatur beschriebene Zellen mit verschiedenem Dichtegrad von den hier angeführten Zellen abzutrennen. Es handelt sich in jenen Fällen nicht um verschiedene Varianten desselben Zelltyps, sondern um verschiedene Zellen.

Die als hell und dunkel bezeichneten Sammelrohrzellen der Niere sind nicht in die Gruppe der hier besprochenen hellen und dunklen Zellen einzureihen (Rhodin 1958, Clark 1957, Rhodin 1960, Miller 1961). Die dunklen Sammelrohrzellen, auch Schaltzellen genannt, sind wesentlich kleiner als ihre helleren Nachbarzellen. Sie liegen wie eingeschaltet zwischen Basalmembran und hellen Zellen und begrenzen diese Zellen nur zum Teil. Sie besitzen im Gegensatz zu den hellen Zellen viele Mikrovesikel und Mikrovilli. Auch in der Nebenschilddrüse sind die hellen und dunklen Zellen nicht in den Kreis der hier behandelten Zellvarianten zu zählen (Rogers 1965).

Wir haben erstmalig quantitativ nachweisen und statistisch sichern können, daß der Grundcytoplasmaraum in den dunklen Zellen gegenüber den hellen Zellen verringert ist. Die Verkleinerung dieses Raumes bedingt eine dichtere Zusammenlagerung aller Zellorganellen. Zur Ursache dieses Phänomens haben wir keinen Beitrag liefern können. Wir haben lediglich festgestellt, daß helle und dunkle Zellen bei Gewebeschädigung, ebenso wie bei sorgfältiger Vermeidung von Alterationen vor und während der Präparation, auftraten. Es muß daher daran gedacht werden, daß für die zellindividuelle Reaktionsweise, nämlich die Entstehung der hellen und dunklen Zellen, ein präexistenter Zustand der Zelle im Augenblick der Fixierung verantwortlich sein kann. Welche intravitalen Bedingungen die Reaktion in Richtung dunkler oder heller Zellen bewirken, ist unseres Erachtens trotz der zahlreichen Untersuchungen nicht geklärt. Die Bedingungen liegen wahrscheinlich im molekularen oder kolloidalen Größenbereich und sind mit den heutigen Untersuchungsmethoden nicht zu er-

fassen. Ebenso muß offen bleiben, wie der Verlust wahrscheinlich niedermolekularer Stoffe (Wasser ?), der zur Verkleinerung des Grundcytoplasmaraumes führt, mit der erhöhten Elektronenstreuung des Restmaterials in den dunklen Zellen gekoppelt ist. Sind in den dunklen Zellen mehr Schwermetall-bindende Gruppen vorhanden, oder ist ihre Anzahl, weil sie enger zusammengedrückt sind, nur deshalb pro Raumeinheit erhöht ?

Das Auftreten heller und dunkler Zellen scheint uns zunächst ein ungelöstes physiko-chemisches Problem zu sein, dessen physiologische und patho-physiologische Bedeutung, solange wir nicht mehr darüber wissen, zurückgestellt werden muß.

Die kritische Durchsicht der Literatur hatte gezeigt, daß helle und dunkle Zellen in verschiedenen Organen, wie der Leber, der Niere, das Pankreas, der Gallenblasenschleimhaut, Nebenniere, Hoden, Prostata, Corpus luteum, Zentralnervensystem, Knochenmark und beim Mammacarcinom, gefunden wurden. Im Hinblick auf die Spezies des untersuchten Lebewesens, den experimentellen Bedingungen und den pathologischen Gegebenheiten war kein einheitlicher Gesichtspunkt zu erheben. Die Deutungen der Autoren erfolgten ohne Berücksichtigung der weiten Verbreitung dieser morphologischen Erscheinung und sind kaum zu verallgemeinern. Es fiel uns nur auf, daß bisher helle und dunkle Zellen nur in hoch differenzierten Geweben, nicht dagegen bei pluripotenten Zellen beschrieben wurden. Doch bleibt abzuwarten, ob dieser, wie uns scheint bisher einzige gemeinsame Gesichtspunkt aufrechterhalten werden kann.

Zusammenfassung.

Pankreasgewebe von Ratten wurde nach sofortiger Fixierung, nach 3 und 6 Minuten Unterbindung elektronenmikroskopisch untersucht. Fixierung in Glutaraldehyd und Osmiumsäure.

In den 3 Versuchsserien traten helle und dunkle Zellen in gleicher Weise auf. Helle und dunkle Zellen sind regellos im Gewebe angeordnet. Sie unterscheiden sich durch den Kontrastunterschied, der im wesentlichen auf der höheren Elektronendichte des Grundcytoplasmas beruht.

Der Abstand zwischen den Zisternen des endoplasmatischen Retikulums wurde gemessen. Es zeigte sich, daß dieser Abstand in den dunklen Zellen kleiner ist als in den hellen.

Dies wurde statistisch gesichert.

Die Ursache für das Auftreten heller und dunkler Zellen ist bisher ungeklärt.

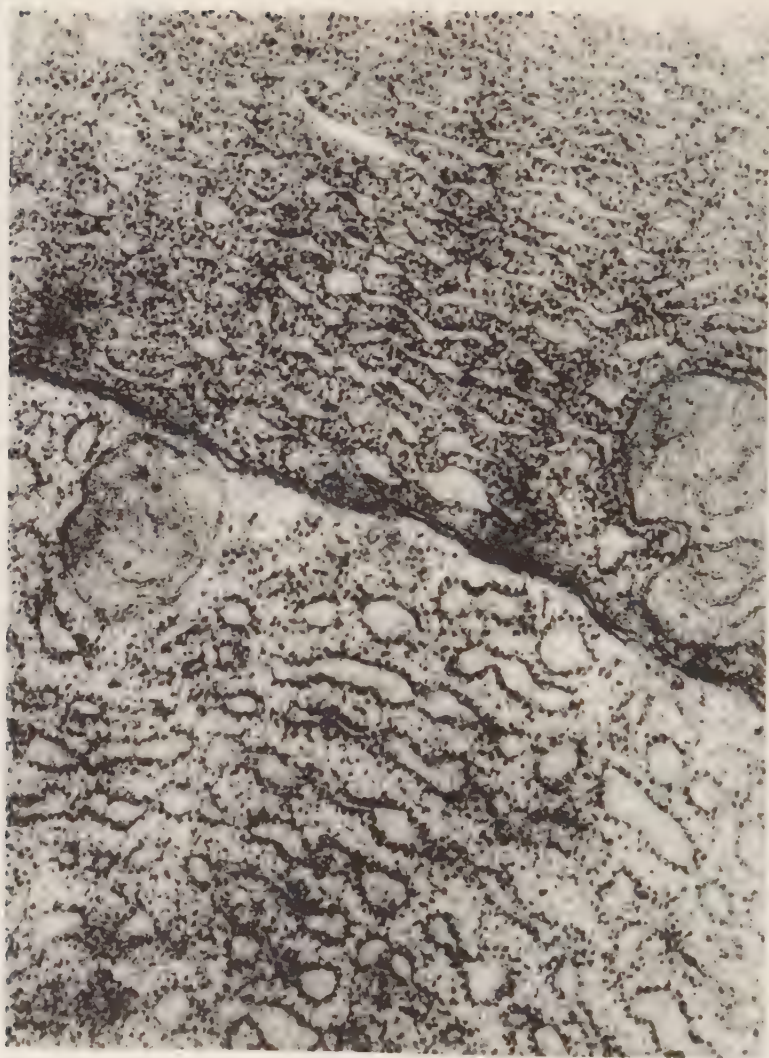


Abb.1. Helle und dunkle exokrine Pankreasacinuszelle der Ratte.
Fixierung nach 3 Minuten Gewebsunterbindung.

1:63000



Abb. 2. Helle und dunkle exokrine Pankreasacinarzelle der Fledermaus.
Fixierung nach 6 Minuten Gewebsunterbindung.

1:63000



Abb. 3. Helle und dunkle exokrine Pancreasacinuszelle der Ratte.
Fixierung nach 6 Minuten Gewebsunterbindung.

1:63000

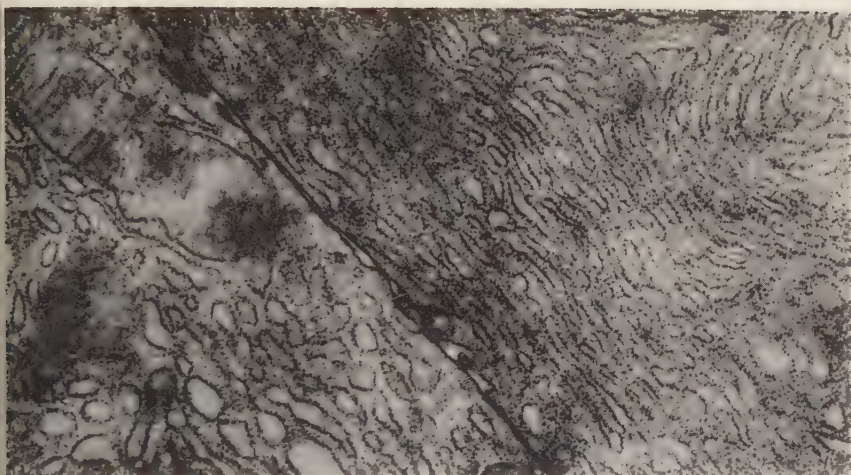


Abb. 4. Helle und dunkle exokrine Pankreasacinuszelle der Ratte.
Sofortige Fixierung.

1:24500

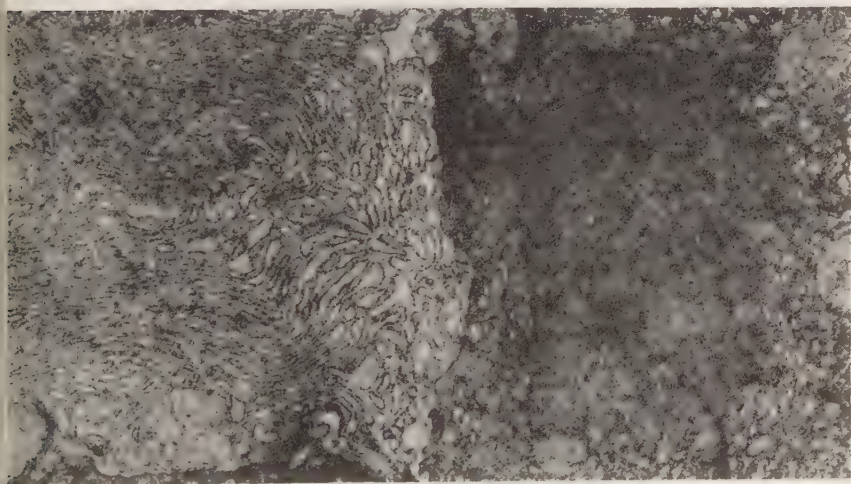


Abb. 5. Helle und dunkle exokrine Pankreasacinuszelle der Ratte.
Fixierung nach 3 Minuten Gewebsunterbindung.

1:10500

Literatur.

- Bartók I., Virágh Sz.: Zur Entwicklung und Differenzierung des endoplasmatischen Retikulums in den Epithelzellen der regenerierenden Leber. Zellforsch.68 741-745 (1965)
- Bergner M.: Die Feinstruktur des Dünndarmepithels während der physiologischen Milchresorption beim jungen Goldhamster. Zellforsch.57 428-478 (1962)
- v.Borries B., Lenz F.: Über die Entstehung des Kontrastes im elektronenmikroskopischen Bild. Proceedings of the Stockholm Conference 1956. Ed.Sjöstrand u. Rhodin Almqvist u. Wiksell.60-66
- Brandes D.: The fine structure and histochemistry of prostatic glands in relation to sex hormones. Intern.Rev.Cytol.Vol.20 207-276.
- Cammermeyer J.: An evaluation of the significance of the "dark" neuron. *Ergeb.Anat.Entwickl.*36 1-61 (1962)
- Christensen A.K.: The fine structure of interstitial cells in guinea pigs. *J. Cell.Biol.*26 911-935 (1965)
- Christensen A.K., Fawcett D.W.: The normal fine structure of opossum testicular interstitial cells. *J. Biophys.Biochem.Cytol.*Vol.9 653-670 (1961)
- Clark, S.: Cellular differentiation in the kidneys of born mice studied with the electron microscope. *J. Biophys.Biochem.Cytol.* Vol.3 No.3 349-362 (1957)
- Cotte G., Cotte N.: Etude ultrastructurale d'image de fonte holocrine dans la cortico-surrenale. Zellforsch.54 182-198 (1961)
- Crabo B.: Fine structure of the interstitial cells of the rabbit testes. Zellforsch.61 587-604 (1963)

- David H. et al: Die Wirkung langdauernder Eiweißmangel diät und chronischer CCl_4 Intoxikation auf das submikroskopische Bild der Rattenleber. Z. für gesamte Inn.Med.u.Grenzgeb.17 993-999 (1962)
- Ekholm R., Edlund Y.: Ultrastructure of the human exocrine pancreas. J. Ultrastruct.Res.2 453-481 (1959)
- Ekholm R. et al: The ultrastructure of the rat exocrine pancreas after brief ethionine exposure. J. Ultrastruct.Res. 7 102-120 (1962)
- Feyter F.: Über das urogenitale Helle-Zellen-System des Menschen. Z.mik.-anat.Forsch.57 324-344 (1951)
- Fuchs M.: Über die "hellen" Zellen im Epithel der menschlichen Uterusschleimhaut. Acta anat.39 244-259 (1959)
- Gansler H., Loew F.: Zur Ultrastruktur von Purkinjezellen. Verhandl.anat.Ges.58 78-83 (1962)
- Giacomelli F. et al: Cytological alterations related to stimulation of the zona glomerulosa of the adrenal gland. J. Cell Biol.Vol.26 No.2 499-521 (1965)
- Herdson P.B. et al: Liver cell degeneration with ethionine administration. 5th Int.Vong.for Electron Microscopy. (ed.S.S.Breese). Acad.Press Inc. New York, London 2 VV6 (1962)
- Hess A.: The fine structure of young and old spinal ganglia. Anat.Rec. 123 399-424 (1955)
- Hübner G., Bernard W.: Das submikroskopische Bild der Leberzelle nach temporärer Durchblutungssperre. Beitr.path.Anat.125 1-30 (1961)

- Johnson F.R. et al: The ultrastructure of the gall-bladder epithelium of the dog. J. Anat., London 96 477-488 (1962)
- Kobayashi Y.: Functional morphology of the pars intermedia of the rat hypophysis as revealed with the electron microscope. Zellforsch.68 155-171 (1965)
- Kondics L., Kjaerheim A.: The zonation of interrenal cells in fowls. Zellforsch.70 81-90 (1966)
- De Kretser D.M.: The fine structure of the testicular interstitial cells in men of normal androgenic status. Zellforsch.80 594-609 (1967)
- Lafontaine J.G., Allard C.: A light and electron microscopic study of the morphological changes induced in the rat liver cells by the azo dye 2-Me-DAB. J. Cell Biol.Vol. 22 No.1 143-188 (1964)
- Leeson R.C.: Observations on the fine structure of rat interstitial tissue. Acta anat. 52 34-48 (1963)
- van Lennep E.W., Madden L.M.: Electron microscopic observation on the involution of the human corpus luteum of menstruation. Zellforsch. 66 365-380 (1965)
- Lever J.: Remarks on the electron microscopy of the rat luteum and comparison with earlier observations on the adrenal cortex. Anat.Rec. 124 111-118 (1956)
- Lever J.: Cytological studies on the hypophysectomized rat adrenal cortex: The alteration of its fine structure following ACTH administration and on lowering the Na/K ratio. Endocrin. 58 163-180 (1956)
- Lever J.: Electron microscopic observations on the adrenal cortex. Amer.J.Anat.97 409-430 (1955)

- Miller F.: Lipoprotein granules in the cortical collecting tubules of mouse kidney. J. Biophys.Biochem.Cytol.Vol.9 157-170 (1961)
- Mugnaini E.: "Dark cells" in electron micrographs from the central nervous System of vertebrates. J. Ultrastruct. Res. 12 235 (1965)
- Munger B.: A phase and electron microscopic study of cellular differentiation in pancreatic acinar cells of the mouse. Amer.J. Anat. Vol. 103 No.1 1-34 (1958)
- Murakami M.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen im interstitiellen Gewebe des Rattenhodens unter besonderer Berücksichtigung der Leydig'schen Zwischenzellen. Zelforsch. 72 139-156 (1966)
- Nemetschek-Gansler H.: Zur Ultrastruktur dunkler Neurone. Verhandl. anat. Ges. 59 328-335 (1963)
- Nemetschek-Gansler H.: Zur Ultrastruktur des Hypophysen-Zwischenhirnsystems der Ratte. Zelforsch.67 844-862 (1965)
- Nishikawa M.: Electron microscopic investigations of the adrenal cortex. Endocrin. 72 197-209 (1963)
- Palade G.E., Siekevitz P.: Pancreatic microsomes. J. Biophys.Biochem. Cytol.Vol.2 No. 6 671-690 (1956)
- Propst A., Müller O.: Die Zonen der Nebennierenrinde der Ratte. Zelforsch. 75 404-421 (1966)
- Rhodin J.: Anatomy of kidney tubules. Int.Rev. Cytol.Vol.7 485-534 (1958)
- Rhodin J.: Fine structure of the nephron.Intern.Nieren-symposium Würzburg. (Herausgeb.Prof.Dr.M. Wollheim) G. Thieme Verlag 92-119 (1960)

- Rogers D.C.: An electron microscopic study of the Parathyroid gland of the frog.
J.Ultrastruct. Res. 13 478-499 (1965)
- Ruthmann A. Methoden der Zellforsch. (1966)
- Schmidt F.C.: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen am menschlichen Hoden und Nebenhoden.
Zellforsch. 63 707 - 727 (1964)
- Schwarz W. et al: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Wirkungen von ACTH und Stress auf die Nebennierenrinde der Ratte.
Virch.Arch.path.Anat. 335 165-179 (1962)
- Schwarz W., Wolff J.: Veränderungen am Hauptstück und peritubulären Kapillaren der Rattenniere nach Hypophysektomie.
Zellforsch. 71 441-454 (1966)
- Sjöstrand F.S., Hanzon V.: Membrane structures of cytoplasm and mitochondria in exocrine cells of mouse pancreas as revealed by high resolution electron microscopy.
Experiment. Cell Res. 7 393-414 (1954)
- Steiner J.W. et al: Observations on the fine structure of rat liver cells in extrahepatic cholestasis.
Zellforsch. 58 141-159 (1962)
- Steiner J.W. et al: Vascular alterations in the liver of rats with extrahepatic biliary obstruction.
Experiment. Mol.Pathol. 1 427-456 (1962)
- Steiner J.W. et al: The ductular cell reaction of the rat liver in extrahepatic cholestasis.
Experiment. Mol.Pathol. 1 162-185 (1962)
- Tamarin A., Sreebney L.: The rat submaxillary salivary gland (A correlative study by light and electron microscopy). J. Morph. 117 295-352 (1965)

- Thoenes : Elektronen- und Lichtmikroskopische Untersuchung am Cytoplasma akuter und chronischer Thioacetamid Vergiftung.
Virch.Arch.path.Anat. 335 556-583 (1962)
- Vazquez-Nin G.H., Sotelo J.R.: Electron microscope study of the atretic oocytes of the rat.
Zellforsch. 80 518-533 (1967)
- Westman J., Sandström B.: Electron microscopy of organic and cultivated chicken embryonic liver.
Zellforsch. 71 271-282 (1966)
- Wolf-Heidegger G. et al: Zur Ultrastruktur und Histochemie der Gallenblasenschleimhaut des Menschen und der Katze. Acta anat. 62 606-618 (1965)
- Wüstenfeld E.: Variationsstatistische Untersuchungen über bemerkenswerte Größenunterschiede "heller" und "dunkler" Zellen.
Zellforsch. 41 361-371 (1955)
- Yamori T. et al: An electron microscopic study of the normal and stimulated adrenal cortex in the rat.
Zellforsch. 55 179-199 (1961)
- Ziegler B.: Licht- und Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Pars intermedia und Neurohypophyse der Ratte.
Zellforsch. 59 486-506 (1963)

Lebenslauf.

Am 14.6.1940 wurde ich als Tochter des damaligen Amtsgerichtsrates Dr. Werner v. Kopp und seiner Ehefrau Achime, geb. v. Colomb, in Berlin geboren. Meine Mutter starb kurz danach. Meine Kindheit und Schulzeit verlebte ich in Berlin. Nachdem ich im Februar 1959 das Abitur in der Paulsen Oberschule in Berlin-Steglitz bestanden hatte, begann ich im Mai 1959 das Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin. Mit Ausnahme eines Semesters in Freiburg, studierte ich in der vorklinischen Zeit in Berlin. Ich legte 1960 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und 1962 die ärztliche Vorprüfung an der Freien Universität Berlin ab. Nach 6 Semestern klinischen Studiums in Göttingen und Berlin, bestand ich im April 1966 die ärztliche Prüfung. Am 13.5.1966 heiratete ich den damaligen Medizinalassistenten Dr. Diedrich Graf v. Keyserlingk. Vom 1.5.1966 bis zum 31.10.1966 arbeitete ich als Medizinalassistentin in der Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. W. Schwarz und stellte einen großen Teil meiner Dissertation fertig.

Weiterhin war ich als Medizinalassistentin in der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Moabit vom 1.11.1966 bis zum 30.4.1967 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. O. Bayer tätig und in der chirurgischen Abteilung vom 1.5.1967 bis zum 31.8.1967 unter der Leitung von Herrn Dr. med. R. Hellenschmied.

Eine Tochter wurde am 8.3.1968 geboren.

